

茶の微生物學的研究 (第二報)

茶の水浸出液の土壤微生物に及ぼす影響

農學博士

板野新夫

辻康彦

緒言

茶の浸出液中の成分は茶の種類に依り又浸出の際の溫度、時間等により其量を異にするものと考へられるが、エダー⁽¹⁾氏の分析例に依り固形物中の熱水可溶成分を各其物質の全量に對する比率を以て示せば次の如くである。

粗蛋白	四〇%	ティン	一〇〇%
脂油	一〇〇%	タンニン	一〇〇%
加里	七六%	石灰	五%
磷酸	一〇%		

以上の如く茶の特異成分として含有せられるティン及びタンニンは殆ど全部が抽出せられる。従つて茶の水浸出液の微生物に對する影響に於て、一般作物と異なる作用を示すとすれば主として之等特異成分による差異と考へるべきであ

る。

而してタンニン及びティンの微生物に對する影響に就て研究されてゐる結果を見れば MARTIN 氏等⁽⁶⁾ は二—五%の濃度にタンニンを加へたるものは *Es. coli*, *Es. typhi* 等の細菌に對し殺菌的效果を有しないが、一〇—二〇%に至れば二四時間以内に死滅せしむる事を報告して居る。又ティンの作用に就ては MERRADITH 氏等⁽⁴⁾⁽⁷⁾ は〇・五%の濃度にて *Asp. niger* は生育を抑制せらるゝも、酵母に對しては〇・二五%より一%迄増加するに従ひ繁殖を促進せしめる事を認めてゐる。

又茶其ものゝ作用に就ては岸田氏⁽⁸⁾ はコレラ、チブス其他の菌の發育を阻止する作用を有し其能力はタンニン及びティン等の物質の存在に依るものならんと述べ、又松本氏等⁽⁵⁾ は茶の種類に就て烏龍茶は内地産茶よりも強き殺菌力を有するも、紅茶は内地産茶よりも弱く、其の殺菌力は略タンニン含量と平行する事を報告してゐる。

以上數種の研究結果より種類により抵抗性に差異はある如くであるけれども、茶は其量に依つては微生物の生育を抑制する作用を有する事を認める事が出来る。著者等は之等の點より、茶園の落葉の土壤微生物に對する影響を調査せんとする目的より又同事に近時行ひつゝある茶より分離せる微生物の研究に於て、タンニン等の物質に對する抵抗性を測定せんとする際の對照として各種茶の熱水浸出液及び冷水浸出液の土壤微生物に對する影響に就て實驗を行つた。

以下に其結果を報告する事とする。

實 驗 之 部

試驗に用ひたる茶は玉露、煎茶、紅茶及び番茶の四種（何れも市販品を用ひた）であつて之等の熱水及び冷水浸出液

を作り五%、一〇%、二〇%の割合に培養基に加へ枯草菌、アゾトバクター、酵母及びアスベルデラス・ニガー等を培養して其影響を調査し、又其際浸出液中のタンニン及びティン含量を定量して参考供した。

一、試 験 法

茶の浸出液の調製法

熱水浸出液は玉露、煎茶、紅茶及び番茶共に一對一〇の割合に水を加へて湯煎鍋上に一時間加熱したる後、布を以て濾過し、更に之を遠心分離器にかけて清澄液を得た。冷水浸出液は同様に一對一〇の割合に水を加へ二時間常溫に振盪して布にて濾過し更に遠心分離器にかけて浸出液を調製した。

培養基の調製法

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) に對しては肉汁ペプトン寒天(2)、アゾトバクター (*Azotobacter chroococcum*) にはアシュービー氏寒天加用培養基(2)、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) はラウレント氏寒天加用培養基、アスベルデラス、ニガー (*Aspergillus niger*) にはチャベック氏寒天培養基(2)を用いた。ラウレント氏培養基の成分を示せば次の如くである。

硫酸アムモニヤ	四・七一 g	硫酸苦土	〇・一 g
酸性磷酸加里	〇・七五 g	麥芽糖	五〇・〇 g
寒天	一五・〇 g	蒸溜水	一〇〇〇 cc

之等の各培養基に上述の如くして得たる茶の浸出液を五%、一〇%及び二〇%の割合に加へて平常濃度になる様に調

製した。

使用したる各菌種は何れも當研究室に保存せるものである。

タンニンの定量法

リンド及スミス氏法を採用したもので大略を示せば次の如くである。

試液五ccを取りインデゴカルミンの五%溶液一〇cc、二〇%硫酸溶液五cc、及び蒸溜水約三〇〇ccを加へ豫め正確に調製せる一〇分の一規定の過マンガン酸加里を以て滴定す。別に同試液一〇ccに蒸溜水三〇ccを加へ、之に一gのカゼイン（精製カゼインを更に數日間エーテルにて脱脂せるもの）を加へて一五分開振盪せる後遠心分離器に掛けて清澄液を分離す。更に此の液に一gのカゼインを加へて振盪、遠心分離を繰返し充分タンニンを除きたる後、清澄液二〇ccに一〇ccの一〇%インデゴカルミン溶液及び五ccの二〇%硫酸溶液を加へて一〇分の一規定過マンガン酸加里にて滴定す。硫酸の一瓦は〇・四六四八瓦の（ガロ）タンニンに相當するが故に過マンガン酸加里による前後の滴定數の差よりタンニンの量を算出せり。

テインの定量法

定法により行つたのであるが大略を示せば次の如くである。

試液二〇ccを取り蒸溜水を加へて稀釋せる後五ccの飽和鹽基性醋酸鉛を加へ全液を二五ccに滿し濾過す。濾液に硫化水素を通じて過剰の鉛を沈澱せしめ濾別し濾液一二五ccを取つて蒸發乾固し硫化水素を蒸發せしむ。

乾固せる殘渣は少量の蒸溜水に溶解し含有せられるテインをクロ、ホルムを以て五回抽出し、クロ、ホルムは集めて

蒸發し殘存せるチインを 100°C に 30 分間恒重に至る迄乾燥して秤量す。

二、測定結果

枯草菌に就て行ひたる結果を示せば第一表の如くである。

以上の試験に於ては茶の浸出液を肉汁ペプトン培養基に添加せる後に其内の可溶状態のタンニンの含量に就ては測定しなかつたのであるが、タンニンは蛋白質と結合して沈澱するが故に以上の際に於てもタンニンの濃度は多少減少せられるものと想像される。此の程度を豫知する爲に肉汁ペプトン培養液に煎茶の浸出液を 20% の割合に加へたる後濾過しタンニンを定量せる結果を示せば次の如くである。

加へたる茶浸出液中のタンニン

0.1546 g

培養基に殘存せるタンニン

0.1108 g

即ち比較的少量であるが減少せる事が認められる。従つて第一表中のタンニン含有量は實際培養基中の量よりも稍多い譯である。

第一表の結果に就て見れば熱水浸出液を 20% 加へたるものは何れも全く生育しない。 10% は僅かに生育するも、 5% が最も良好な生育を示し煎茶の場合を除けば標準と同等若しくは少しく優つてゐる。

冷水浸出液の影響は煎茶の 20% を除き何れも生育するが、 20% 加へたるもの最も悪く、 10% は 5% と大體同様であるが、 5% 及び 10% の生育は標準と同等若しくは少しく優つてゐる。

第一表 枯草菌に及ぼす影響

茶名及浸出法	浸出液 加用量	タンニン 含有量	テイン 含有量	調査日数					
				5 日		7 日		14 日	
標準	—	(100cc 培 養基中、瓦)	(100cc 培 養基中、瓦)	++	++	+++	++	+++	++
玉露 熱水浸出液	5%	0.0143	0.0090	++	++	+++	++	+++	++
	10%	0.0286	0.0180	+	+	++	+	+++	++
	20%	0.0573	0.0360	—	—	—	—	—	—
同 冷水浸出液	5%	0.0084	0.0072	++	++	+++	++	+++	++
	10%	0.0168	0.0144	++	++	+++	++	+++	++
	20%	0.0336	0.0288	+	—	+	+	+++	++
煎茶 熱水浸出液	5%	0.0306	0.0100	+	+	+	+	+++	++
	10%	0.0613	0.0200	+	—	+	—	+	—
	20%	0.1227	0.0400	—	—	—	—	—	—
同 冷水浸出液	5%	0.0154	0.0045	+++	++	+++	++	+++	+++
	10%	0.0308	0.0090	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20%	0.0617	0.0180	—	—	—	—	—	+
同上の標準	—	—	—	++	++	+++	++	+++	+++
番茶 熱水浸出液	5%	0.0176	0.0040	++	++	+++	++	+++	++
	10%	0.0352	0.0080	+	+	++	+	+++	++
	20%	0.0704	0.0160	—	—	—	—	—	—
番茶 冷水浸出液	5%	0.0048	0.0062	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	10%	0.0096	0.0124	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20%	0.0192	0.0248	+	+	++	++	+++	++
同上標準	—	—	—	++	++	+++	++	+++	+++
紅茶 熱水浸出液	5%	0.0155	0.0084	++	++	+++	++	+++	++
	10%	0.0311	0.0168	—	—	+	+	++	+
	20%	0.0623	0.0336	—	—	—	—	—	—
同 冷水浸出液	5%	0.0046	0.0044	++	++	+++	++	+++	++
	10%	0.0093	0.0088	++	++	+++	++	+++	++
	20%	0.0187	0.0176	++	++	++	++	++	++

(註) 表中煎茶及び番茶の冷水浸出液による試験は他のものと日を異にして行ひたる故に之に對する標準を附した。

茶の種類に就ては熱水及び冷水浸出液共に煎茶が最も繁殖を抑制する如く他は大體大差が認められない。

熱水浸出液と冷水浸出液を比較すれば、冷水浸出液を加へたものは常に良好なる生育を示してゐる。之は主としてタンニン及びティンの含量の差に基くものと考へられる。

タンニン含量に就て見れば生育を示さざる最小限度は 1000cc の培養基中 0.057g であつて 0.03g 以上になると生育が害せられる様である。

ティン含量は大體タンニン含量と平行してゐるのであつて、生育を示さざる最小限度は番茶熱水浸出液を 20% 加へたるもの、 0.016g であるが、玉露の熱水浸出液の 10% 加へたるもの、 0.018g 及び番茶冷水浸出液を 20% 加へたるもの、 0.025g でも共に生育してゐる。此の結果より見れば生育に對してはティンよりもタンニンによる影響が著しきものと考へられる。

二、アゾトバクターに對する影響

アゾトバクターに就て行へる結果を示せば第二表の如くである。

第二表に就て見るに何れの茶に於ても熱水及び冷水浸出液の 5% を加へたるものは全く生育しない。

熱水浸出液の生育に對する影響に就て見れば玉露の 1% 加へたものは大體標準と同程度の生育を示すが、 2% に至ればこれより少しく劣つてゐる。

煎茶のみは 2% の場合も生育せず、番茶及び紅茶は生育は示すも極めて貧弱である。色素は標準に於ては全く生成されなかつたのであるが、浸出液を加へたるものに於ては何れも生成され其量が増加されるに従ひ色素の量も増加する如

第二表 アゾトバクターに及ぼす影響

茶名及浸出法	浸出液 加用量	タンニン 含有量 (100cc 培養基中、瓦)	テ イ ン 含有量 (100cc 培養基中、瓦)	調 査 日 数					
				3日		4日		7日	
				生育	色素 生成	生育	色素 生成	生育	色素 生成
標 準	—	—	—	++	—	+++	—	+++	—
玉露 熱水液 浸出液	1%	0.0039	0.0021	++	+	++	+	+++	++
	2%	0.0079	0.0042	+	—	++	+	++	+
	5%	0.0152	0.0265	—	—	—	—	—	—
同 冷水液 浸出液	1%	0.0012	0.0012	++	+	+++	++	+++	++
	2%	0.0024	0.0024	++	+	++	+++	++	+++
	5%	0.0066	0.0102	—	—	—	—	—	—
煎茶 熱水液 浸出液	2%	0.0134	0.0039	—	—	—	—	—	—
	5%	0.0282	0.0220	—	—	—	—	—	—
同 冷水液 浸出液	2%	0.0062	0.0018	+	—	+	—	+++	++
	5%	0.0199	0.0060	—	—	—	—	—	—
番茶 熱水液 浸出液	2%	0.0071	0.0047	+	—	+	—	+++	++
	5%	0.0185	0.0310	—	—	—	—	—	—
同 冷水液 浸出液	2%	0.0019	0.0025	++	+	+++	++	+++	++
	5%	0.0095	0.0070	—	—	—	—	—	—
紅茶 熱水液 浸出液	2%	0.0056	0.0034	+	—	+	—	++	++
	5%	0.0167	0.0225	—	—	—	—	—	—
同 冷水液 浸出液	2%	0.0003	0.0009	++	+	+++	+	+++	+
	5%	0.0065	0.0052	—	—	—	—	—	—

註、タンニン及びテインの含量が5%の場合、比例的でないのは別の抽出液を使用せるによる

くである。アゾトバクターの色素は紫外線其他⁽⁸⁾により生成せらるゝ事が報告されてゐるが、以上の結果より茶中のタンニン及びテイン等も原因となり得るものと考へられる。

冷水浸出液は玉露に於て一%加へたるものが最もよく二%は稍劣つてゐる。而して其他の茶に於ても煎茶を除き二%加へたるものは略標準と同程度の生育を示してゐる。色素生成は何れも標準より著しい。

冷水浸出液を加へたるも

第三表 酵母に及ぼす影響

茶名及浸出法	浸出液 加用量	タンニン 含有量 (100cc 培 養基中、瓦)	テイソン 含有量 (100cc 培 養基中、瓦)	調査日数		
				4 日	7 日	14 日
標準	—	—	—	++	++	++
玉露	熱水液	5%	0.0199	0.0129	+++	+++
	浸出液	10%	0.0398	0.0258	+++	+++
		20%	0.0796	0.0515	+++	+++
同	冷水液	5%	0.0075	0.0076	++	++
	浸出液	10%	0.0149	0.0149	+++	+++
		20%	0.0299	0.0305	+++	+++
煎茶	熱水液	5%	0.0328	0.0102	++	++
	浸出液	10%	0.0657	0.0205	++	++
		20%	0.1315	0.0410	+++	+++
同	冷水液	5%	0.0157	0.0057	++	++
	浸出液	10%	0.0315	0.0115	++	++
		20%	0.0629	0.0230	+++	+++
番茶	熱水液	5%	0.0177	0.0129	++	++
	浸出液	10%	0.0355	0.0257	+++	+++
		20%	0.0710	0.0515	+++	+++
同	冷水液	5%	0.0076	0.0076	++	++
	浸出液	10%	0.0152	0.0152	+++	+++
		20%	0.0305	0.0305	+++	+++
紅茶	熱水液	5%	0.0160	0.0092	++	++
	浸出液	10%	0.0320	0.0185	++	++
		20%	0.0642	0.0370	+++	+++
同	冷水液	5%	0.0042	0.0031	++	++
	浸出液	10%	0.0084	0.0062	++	++
		20%	0.0168	0.0125	+++	+++

のは生育、色素生成共に熱水の場合よりも良好であつて、茶の種類に就ては熱水、冷水共に煎茶が特に抑制作用を有してゐる。

タンニン含量に就て見れば全く生育しない場合の最小限度は $0.0065g$ であるが約 $0.002g$ 程度に至れば生育が害せられる様である。ティン含量の最小限度は 0.0052 であつて之以下の含量にては何れも生育を示してゐる。

三、酵母に對する影響

酵母に就て行へる結果を示せば第三表の如くである。

熱水及び冷水浸出液共に枯草菌、アソトバクターの場合と異り、加へたる量の増加に供ひ生育も亦促進せられてゐる熱水浸出液に就て見れば何れも 20% 加へたるものが最も生育良好で 10% 、 5% の順に次第に劣つてゐる。然し 5% 加へたるものに於ても尙標準に比較すれば煎茶の略同様なるを除けば明かに良好なる生育を示してゐる。

冷水浸出液に於ては熱水浸出液と同様なる傾向を示し、生育の程度に就ても顯著なる差異は認められない。

茶の種類に就ては熱水及び冷水浸出液共に玉露最もよく其他に於ては紅茶が稍劣る如くである。

加へたるタンニンの最大量は $0.1315g$ 、ティンは $0.0515g$ であつて尙何れも生育を促進する傾向を示してゐる。

四、アスベルヂラス、ニガーに及ぼす影響

アスベルヂラス、ニガーに就て行つた結果を示せば次の如くである。

第四表 アスベルデラスニガーに及ぼす影響

茶名及浸出法	浸出液 加用量	タンニン 含有量 100cc 培 養基中、瓦	テイ ン 含有量 100cc 培 養基中、瓦	調 査 日 數		
				3 日	4 日	5 日
標準	—	—	—	++	+++	+++
玉露 熱水液	5%	0.0199	0.0104	+++	+++	+++
	10%	0.0399	0.0207	++	+++	+++
	20%	0.0799	0.0415	++	++	+++
同 冷水液	5%	0.0061	0.0059	++	++	+++
	10%	0.0123	0.0117	++	++	+++
	20%	0.0245	0.0235	++	++	+++
煎茶 熱水液	5%	0.0336	0.0098	++	++	+++
	10%	0.0671	0.0197	++	++	+++
	20%	0.1342	0.0395	++	++	+++
同 冷水液	5%	0.0154	0.0045	++	++	+++
	10%	0.0308	0.0090	++	++	+++
	20%	0.0617	0.0180	+++	++	+++
番茶 熱水液	5%	0.0178	0.0116	+++	+++	+++
	10%	0.0356	0.0232	++	++	+++
	20%	0.0713	0.0465	++	++	+++
同 冷水液	5%	0.0048	0.0062	++	++	+++
	10%	0.0096	0.0125	+++	+++	+++
	20%	0.0191	0.0250	++	++	+++
紅茶 熱水液	5%	0.0141	0.0086	++	++	+++
	10%	0.0282	0.0172	++	++	+++
	20%	0.0564	0.0345	++	++	+++
同 冷水液	5%	0.0008	0.0024	++	++	+++
	10%	0.0016	0.0047	++	++	+++
	20%	0.0032	0.0094	++	++	+++

以上の熱水浸出液を加へたるものに就て見れば五%最も良く、一〇%、二〇%の順に生育が抑制せられる。五%及び一〇%は何れも標準より良好なる生育を示すも二〇%に至れば稍劣る如くである。

冷水浸出液に就ては五%、一〇%及び二〇%加へたるもの間には顯著なる差異は認められないが何れも標準よりは良好なる生育を示してゐる。

冷水浸出液による影響を熱水浸出液の場合と比較するに、前者は其加へたる量の多い時に於て常に熱水浸出液に優つてゐる。之は其タンニン及びテインの含量の差異より容易に諒解し得られる。

茶の種類に就ては熱水及び冷水浸出液共に顯著なる差異を認め難い。

加へたるタンニンの最大量は〇・一三四二gであつて、此の場合に於ても尙生育はするのであるが、大體タンニン含量が〇・〇七g以上に至れば生育が害せられる如くである。テインの最大含量は〇・〇四六五gである。

五、土壤微生物の抵抗性に就て

以上四種の測定に於て用ひたる四種の微生物中、最も抵抗力の弱きものはアゾトバクターであつて、枯草菌、アスベルヂラス・ニガールの順に強く、酵母に於ては反つて茶の浸出液の量と共に(著者等の行へる範圍に於て)生育を促進される傾向を示してゐる。即ち正確には決定し得なかつたのであるけれども、アゾトバクターの生育の全く阻害せられる最小限度は大體〇・〇〇六gであり枯草菌は〇・〇五七三gである。アスベルヂラス・ニガールは大略〇・〇七g以上に至れば少く生育が害せられるも、酵母にては〇・一三一五gに至るも未だ生育を促進される如き結果を示してゐる。

茶の浸出液が生育を促進する如き傾向は酵母以外のものに於ては、加へたる茶の浸出液の少量なる場合に僅かに認め

酵母が茶の浸出液により反つて生育を促進される事は或は N. F. MAHONEY 氏⁽⁴⁾の報告せる如くテインによる刺戟とも考へられるのであるが、著者等の結果によれば土壤微生物に對する茶の生育抑制力はテインよりも寧ろタンニンにより左右せらるゝ如く推察される。

(1) 玉露、煎茶、番茶及び紅茶の熱水及び冷水浸出液を作り培養基に加へて枯草菌、アゾトバクター、酵母及びアスペルギラス・ニガリの生育に及ぼす影響を調査せり。

(3) 茶の種類に就ては煎茶が最も張き抑制力を有する如くであるが顯著なる差異は認められず。

(4) 實驗に用ひたる土壤微生物中には、アゾトバクターが最も抵抗力弱く、枯草菌之に次ぎ、アスペルヂラス・

参考文献

- (2) FIED, E. B. AND WAKSMAN, S. A. Laboratory Manual of General Microbiology.

- (3) 岸田 徹 東醫事新 2756 (2829-2832) 1931 (抜本より)
- (4) Mezzadroit, G. and Amat, A. Ind. Saccar. ital. 25, 392-4 (1932) (From abstract)
- (5) 松本一雄、松田主計 臺灣醫會 32, 514-522 (1933) (抜本より)
- (6) Martin, J. E., J. D. and Fowles, C. D. Ann. Surgery. 99, 993-5 (1936) (From abstract)
- (7) Mezzadroit G. and Amat, A. Atti accad. Lincei 21, 46-50 (1935) (From abstract)
- (8) 板野新次、松浦 章 農學研究 第36卷 349-380 (1936)

(昭和十二年二月三日)